

Cystatin C



Anwendungshinweise für Cystatin C Immunoassay auf Beckman Coulter® IMAGE® 800 SYSTEMS

Verwendung des Cystatin C-Reagenzien-Kits A52761 und der Anwenderdefinierten Reagenzkartuschen von IMAGE

Verwendungszweck

Der Cystatin-C-Immunoassay auf Beckman Coulter® IMAGE®-Systemen ist ein *In-vitro*-Diagnostest zur quantitativen Bestimmung von Cystatin C in Humanserum und -plasma. Die Messung von Cystatin C wird bei der Diagnose und Behandlung von Nierenerkrankungen eingesetzt.

Zusammenfassung und Beschreibung 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 wird durch eine normale Glomerularmembran frei gefiltert, dann in den proximalen Tubuli resorbiert und fast vollständig katabolisiert. Daher ist die Cystatin-C-Konzentration im menschlichen Blut eng mit der glomerulären Filtrationsrate (GFR) [2] verbunden. Eine Verminderung der GFR führt zu einem Anstieg der Cystatin C-Konzentration. Es hat sich gezeigt, dass die Cystatin C-Konzentration nicht signifikant durch andere Faktoren wie Muskelmasse, Entzündungskrankheiten, Geschlecht, Alter oder Ernährung beeinflusst wird [2, 3, 4].

Standardisierung von Kalibratoren

Der Enzian-Cystatin-C-Kalibrator ist gegen den internationalen Kalibratorstandard ERM-DA471/IFCC standardisiert.

GFR-Prognoseberechnung

Es wurden mehrere auf Cystatin C basierende Prognosegleichungen zur Berechnung der GFR für Erwachsene und Kinder veröffentlicht. Es ist zu beachten, dass diese Formeln mit verschiedenen Cystatin-C-Tests (partikelverstärkter nephelometrischer Immunoassay PENIA oder partikelverstärkter turbidimetrischer Immunoassay PETIA) evaluiert wurden und möglicherweise ungenaue GFR-Ergebnisse ergeben, wenn eine ungeeignete Kombination aus Formel und Assay verwendet wird. Für die Berechnung der GFR aus den mit dem Enzian-Assay gemessenen Cystatin-C-Werten wird die folgende Prognosegleichung unter Verwendung von mg/l als Einheitsfaktor 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 und Anti-Cystatin C aus den Immunpartikeln aggregiert. 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. Die IMAGE®-Plattformen berechnen die Ergebnisse automatisch.

Im Reagenzienkit enthaltene Reagenzien

Reaktionspuffer 1 (R1)

Cystatin-C-Reaktionspuffer, 1 Ampulle mit 100 ml. R1 ist eine MOPS [3-(N-Morpholino)-Propansulfonsäure]-gepufferte Kochsalzlösung, konserviert mit Natriumaziden (0,09 % (w/v)). Dieser Puffer ist gebrauchsfertig.

Reaktionspuffer 2 (R2):

Cystatin C Immunopartikel, 2 Ampullen mit 10 ml. 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.

Artikel, die in der CYSX IMAGE-Verkaufsgruppe REF B69746 enthalten sind:	
Enzian-Cystatin-C-Reagenz-Kit	REF A52761
Benutzerdefinierte Reagenzpatrone (pkg. von 10)	REF 447250
Evaporationskappen (pkg. von 20)	REF 447170
Erforderliche Elemente (nicht enthalten):	
Enzian-Cystatin-C-Kalibrator-Kit (6 x 1 ml)	REF A52763
Enzian-Cystatin-C-Kontrollkit, niedrig & hoch (2 x 1 ml)	REF A52765

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

1. Dieser Test ist nur für den *In-vitro*-Gebrauch bestimmt und muss von qualifiziertem Personal durchgeführt werden.
2. Die Reagenzien enthalten Antibiotika und müssen mit der gebotenen Vorsicht behandelt werden.
3. Die Reagenzien enthalten Natriumazid-Konservierungsmittel und müssen mit der gebotenen Vorsicht behandelt werden: Nicht einnehmen oder mit der Haut oder mit Schleimhäuten in Kontakt kommen lassen. Die Natriumazid-Konzentration dieses Produkts wird nicht als gefährlich eingestuft. Allerdings kann die Ansammlung von NaN₃ in Blei- und Kupferrohren zur Bildung von explosiven Metallaziden führen. Daher sollte beim Ausschütten in den Ablauf mit reichlich Wasser nachgespült werden.
4. Die Immunpartikel enthalten Substanzen tierischen Ursprungs. Bei der Entsorgung jeglicher Abfallmaterialien sind die örtlichen Vorschriften einzuhalten.
5. Das bei der Herstellung von Kalibratoren und Kontrollen verwendete Serum wurde auf Hepatitis HBsAG, Anti-HCV, Anti-HIV1 und Anti-HIV2 getestet und für negativ befunden. Dennoch enthalten die Materialien Substanzen menschlichen und tierischen Ursprungs und müssen mit der gebotenen Sorgfalt behandelt werden. Bei der Entsorgung jeglicher Abfallmaterialien sind die örtlichen Vorschriften einzuhalten.

Lagerung von Reagenzien und Haltbarkeit

Haltbarkeit der ungeöffneten Reagenzien bei 2 - 8 °C: Siehe Verfallsdatum auf dem Etikett. Haltbarkeit nach dem Öffnen: Bis zum Verfallsdatum bei Verwendung von Hartkappen bei 2 - 8 °C. Haltbarkeitsdauer nach dem Öffnen: 28 Tage bei Verwendung von Evaporationskappen.

Probenentnahme und Handhabung

Das notwendige Probenmaterial ist menschliches Serum oder EDTA-/heparinisierendes 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 lang stabil ist. Darüber hinaus wurde veröffentlicht, dass Proben bis zu 5 Jahre unter -70 °C gelagert werden können [6]. Proben vor der Analyse sorgfältig schütteln.

* Eine eingetragene Marke von Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

Assayverfahren

Hinweise zur Anwendung/Installation des Assay

Weiter unten im Abschnitt "Instrumentenparameter" finden Sie eine detaillierte Liste der Instrumentenparameter. Der Anwendungshinweis ist auch verfügbar über: <http://www.gentian.com>. Das Einrichten, die Wartung, der Betrieb und die Vorsichtsmaßnahmen für das Gerät müssen in Übereinstimmung mit den Beckman Coulter® IMMAGE® - Gerätehandbüchern erfolgen.

Vorbereitung der Reagenzien

Das Reagenz wird transferfertig in der IMMAGE-Reagenzkartusche geliefert. Überführen Sie den Inhalt von Reagenz 1 und Reagenz 2 in das entsprechende Kompartiment der anwenderdefinierten Kartusche, wie in der folgenden Tabelle dargestellt, und bringen Sie Evaporationskappen an, wenn Sie diese verwenden. Seien Sie vorsichtig, um eine 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	-	8,5 ml
R2, Immunopartikel	1,5 ml	-

Festlegung der Kalibrationskurve

Verwenden Sie die Standards 1 bis 6, um eine 6-Punkt-Standardkurve zu erstellen, wie sie in den Instrumentenhandbüchern der Beckman Coulter® IMMAGE®-Systeme definiert ist. Die Werte des Kalibrators 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. Alle vier Wochen sollte eine neue Kalibrierung durchgeführt werden.

QC-Kontrollen

Die 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 zugewiesenen Werte sind im Analysewert-Blatt angegeben, das dem Enzian-Cystatin-C-Kontrollkit beiliegt. Sind die Kontrollwerte nicht stimmig, wiederholen Sie die Kontrollmessungen. 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. Prüfen Sie, dass das Probenmindestvolumen vorhanden ist, analysieren Sie die Proben gemäß der Anleitung in den Instrumentenhandbüchern von Beckman Coulter® IMMAGE®-Systeme.

Ergebnisse

Die Ergebnisse werden von den Beckman Coulter® IMMAGE®-Systemen automatisch berechnet. Die Ergebnisse werden in mg/l dargestellt.

Einschränkungen

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

Messbereich

Der Messbereich von Cystatin C für den Assay liegt bei etwa 0,4 und 8,0 mg/l. Der genaue Bereich ist abhängig von den Kalibrator-Sollwerten der Chargennummer des Enzian-Cystatin-C-Kalibrator-Kits.

Referenzintervalle

Enzian folgt der CLSI-Richtlinie, C28-A2; *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.

* Eingetragene Marken von Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

Leistungsmerkmale

Alle Studien wurden mit einer Charge von Reagenzien in einem Labor durchgeführt, sofern nicht anders angegeben.

Genauigkeit

Der Enzian-Cystatin-C-Immunoassay wurde in einer dreitägigen Präzisionsstudie verwendet, die nach dem CLSI-Protokoll EP5-A konzipiert wurde. Mit dem Beckman Coulter® IMMAGE 800* System wurden vier Serumpools und 2 Kontrollstufen gemessen.

ID	Mittelwert (mg/l)	Innerhalb eines Laufs CV(%)	Gesamt-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

Linearität

Der Enzian-Cystatin-C-Immunoassay wurde in einer Linearitätsstudie auf dem IMMAGE 800-System verwendet, wobei ein linearer Bereich von 0,35 - 6,79 mg/l beobachtet wurde. Konzentrationen außerhalb dieses Bereichs wurden nicht getestet.

Analytische Wiederfindung

Bei Nutzung des Enzian-Cystatin-C-Immunoassays mit einem Beckman Coulter® IMMAGE 800 wurde eine Wiederfindung von 100 - 110 % beobachtet.

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.

Bei Nutzung des Enzian-Cystatin-C-Assays mit einem IMMAGE 800-Instrument wurde eine untere Quantifizierungsgrenze von 0,24 mg/l ermittelt.

Sicherheitszone

In einer Studie mit IMMAGE 800 wurde die Sicherheitszone für Antigenüberschüsse mit dem Enzian-Cystatin-C-Test auf bis zu 43 mg/l erweitert.

Interferenz

In einer Studie wurde keine signifikante Interferenz mit Hämoglobin (8 g/l), Intralipid (16 g/l) oder Bilirubin (800 mg/l) in Cystatin-C-Proben festgestellt. Die Interferenzstudie wurde in Übereinstimmung mit dem Protokoll EP7-A von CLSI [7] entworfen. Zuvor wurden keine signifikanten Interferenzen mit den getesteten Medikamenten festgestellt, wie in einer Publikation von Sonntag und Scholer empfohlen [8]. Beim Enzian-Cystatin-C-Immunoassay liegt keine HF-Interferenz vor, da die Antikörper mit Hilfe von Geflügelantikörpern (Huhn) hergestellt werden [9].

Instrumentenvariation

Die Instrumentenvariation zwischen Enzian Cystatin C auf IMMAGE und Hitachi 917 Instrumenten wurde gemessen und die Ergebnisse mit Hilfe der Passing-Bablok-Reggressionsanalyse analysiert:

Methoden	N	Bereichspr obe (mg/l)	Begriff	Koeffizient	95 % CI des Koeffizienten
IMMAGE 800 vs. Hitachi 917	24	0,58 - 6,97	Schnittpunkt Steigung	0,08 1,01	0,05 - 0,11 0,99 - 1,03

Weitere Informationen

Ausführlichere Informationen über IMMAGE®-Systeme finden Sie im entsprechenden 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.

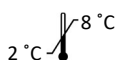
Transportschäden

Bitte benachrichtigen Sie Ihren Händler, wenn dieses Produkt beschädigt empfangen wird. Für technische Unterstützung wenden Sie sich bitte an Ihren örtlichen Beckman Coulter®-Vertreter. Für andere Sprachen besuchen Sie: <https://www.gentian.com/clinical-diagnostic-products/beckman-coulter-customers-cystatin-c>

Zeichenerklärung



Chargennummer



Temperaturgrenze



Haltbarkeitsdatum



Siehe Gebrauchsanweisung



Hersteller



Katalognummer



Diagnostisches medizinisches *In-Vitro*-Gerät



Vorsicht



Biologische Risiken



Gentian AS **CE**

Bjornasveien 5, N-1596 Moos, Norwegen

TEL.: +47 99 33 99 05

FAX: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.com>

Literaturverzeichnis

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: Klinische Chemie 57: 737-745, 2011
7. CLSI; Dokument EP7-A; Interferenztests in der Klinischen Chemie; Genehmigte Richtlinie.
8. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001;38:376-85.
9. Larsson A et al: Poultry Science 1993;72:1807-1812.

Instrumenteneinstellungen für Cystatin C Immunoassay auf Beckman Coulter® IMAGE-Systemen*(IMAGE 800)

Seite 1

Testname: CYSX	Einheit: mg/L
Chargennummer des Reagenzie: *	Protokoll: Nicht-kompetitiver NIPIA
Kartuschennummer: **	Verfallsdatum der Reagenzie: *
Reagenzien-Seriennummer: **	Tests pro Charge: 40
AGXS Limit:	AGXS aktiviert:

Seite 2

Puffer: BUF10	Verdünnungsmittel: DIL10
Probenaufkommen: 5 µl	Verdünnung des Kalibrators: 1:1
Volumen des Reaktionspuffers: 0 µl	Probenverdünnung: 1:1
Volumen Reagenz A: 30 µl	Reaktionszeit: 5 Minuten
Volumen Reagenz B: 195 µl	

Seite 3:

Niveaus: 6	Kalibratorniveau
Reproduktionen: 2	Niveau 1: *
Aktualisierung des Niveaus: 3	Niveau 2: *
Reproduktionen: 2	Niveau 3: *
Art der Kalibrierung: 3.Grad Polynom	Niveau 4: *
	Niveau 5: *
	Niveau 6: *

Neigung und Versatz (unter 'Reagenz und Kalibrierung')

Faktor a (a·x + b): 1,10

Enzian-Cystatin-C-Assay-Puffer in Kompartiment B und Enzian-Cystatin-C-Immunpartikel in Kompartiment A überführen. Das maximale Volumen der Kompartimente "A" und "B" der UDR-Kartusche beträgt 8,5 ml. Daher beträgt die maximale Anzahl der in der Kartusche geladenen Tests etwa 40 Tests.

* Chargenabhängig

** Anwenderdefiniert