

# Cistatin C



## Napomene za primjenu imunoanalize Citastina C na sustavima IMMAGE®800 društva Beckman Coulter®

Uporaba kompleta reagensa A52761 za cistatin C i IMMAGE korisnički definirani reagens patroni

### Namjena

Imunoanaliza cistatina C na sustavima serije IMMAGE® društva Beckman Coulter® dijagnostička je *in vitro* pretraga kojom se utvrđuje količina cistatina C u ljudskom serumu i plazmi. Mjerenje cistatina C primjenjuje se u dijagnosticiranju i liječenju bolesti bubrega.

### Sažetak i objašnjenje pretrage

Neglikozilirani osnovni protein, cistatin C (molekularna masa 13,2 kD), proizvodi se ujednačenom brzinom u gotovo svakoj nukleiranoj stanici ljudskog tijela [1]. Slobodno se filtrira kroz normalnu glomerularnu membranu i zatim se ponovno apsorbira i gotovo u potpunosti katabolizira u proksimalnim kanalicima. Koncentracija cistatina C u ljudskoj krvi stoga je blisko povezana s brzinom glomerularne filtracije (GFR) [2]. Smanjenje GFR-a uzrokuje povećanje koncentracije cistatina C. Nije utvrđeno da na koncentraciju cistatina C znatno utječu drugi čimbenici kao što su mišićna masa, upalne bolesti, spol, dob ili prehrana [2, 3, 4].

### Standardizacija kalibratora

Gentianov kalibrator za cistatin C standardiziran je u skladu s međunarodnim standardom za kalibratore ERM-DA471/IFCC.

### Izračun predviđanja GFR-a

Objavljeno je više jednadžbi za izračunavanje predviđanja GFR-a na osnovu cistatina C u odraslih i djece. Valja napomenuti da su se te formule ocjenjivale različitim analizama cistatina C (nefelometrijskom imunoanalizom potpomognutom česticama [PENIA] ili turbidometrijskom imunoanalizom potpomognutom česticama [PETIA]) i mogu dati netočne rezultate GFR-a ako se upotrijebi neodgovarajuća kombinacija formule i analize. Za izračunavanje GFR-a iz vrijednosti cistatina C koje su izmjerene Gentianovom analizom preporučuje se sljedeća jednadžba predviđanja u kojoj se kao jedinični čimbenik upotrebljava mg/l [5]: Jednadžba je valjana za osobe starije od 14 godina.

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

### Načelo analize

Uzorak ljudskog seruma ili plazme miješa se s imunočesticama cistatina C. Nakupljaju se cistatin C iz uzorka i anticistatin C iz imunočestica. Tako stvorene složene čestice apsorbiraju svjetlost, a turbidometrijom se ta apsorpcija povezuje s koncentracijom cistatina C interpolacijom na utvrđenoj standardnoj kalibracijskoj krivulji. Platforme serije IMMAGE® automatski će izračunati rezultate.

### Reagensi isporučeni u kompletu reagensa

#### Reakcijski pufer 1 (R1)

Reakcijski pufer za cistatin C, 1 bočica od 100 ml. R1 puferirana je fiziološka otopina MOPS-a [3-(N-morfolino)-propan sulfonske kiseline] konzervirana natrijevim azidom (0,09 % mase po volumenu). Pufer je spreman za upotrebu.

#### Reakcijski pufer 2 (R2):

Imunočestice cistatina C, 2 bočice od 10 ml. R2 sadrži imunočestice, a to je pročišćena frakcija imunoglobulina koja je usmjerena protiv cistatina C i koja je kovalentno vezana na ujednačene čestice polistirena. Humani cistatin C upotrijebljen je kao imunogen u postupku generiranja

\*Registriran žig društva Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

imunočestica. Isporučuje se kao suspenzija koja je spremna za upotrebu, konzervirana natrijevim azidom (0,09 % mase po volumenu) i antibioticima.

Artikli uključeni u prodajnu skupinu CZYSX IMMAGE REF B69746:	
Komplet reagensa za cistatin C društva Gentian	REF A52761
Korisnički definirana reagens patrona (pakiranje od 10)	REF 447250
Zatvarači protiv isparenja (pakiranje od 20)	REF 447170
Potrebni artikli (nisu isporučeni):	
Komplet kalibratora za cistatin C društva Gentian (6 x 1 ml)	REF A52763
Komplet niskih i visokih kontrola za cistatin C društva Gentian (2 x 1 ml)	REF A52765

### Upozorenja i mjere opreza

- Ova je pretraga namijenjena samo za upotrebu *in vitro* i njome mora rukovati kvalificirano osoblje.
- Reagensi sadrže antibiotike i njima se mora rukovati s oprezom.
- Reagensi sadrže konzervans natrijev azid i njima se mora rukovati s oprezom: Nemojte gutati ili omogućiti doticaj s kožom ni sluznicama. Za koncentraciju natrijevog azida koju ovaj proizvod sadrži ne smatra se da je opasna. Međutim, akumulirani  $\text{NaN}_3$  u olovnim i bakrenim cijevima može uzrokovati stvaranje eksplozivnih metalnih azida. Kako biste to spriječili, temeljito isperite ako izlijevate u slivnik.
- Imunočestice sadrže tvari životinjskog podrijetla. Odlaganje svih odbačenih materijala treba biti u skladu s lokalnim zahtjevima.
- Serum koji je upotrijebljen u proizvodnji kalibratora i kontrola testiran je na hepatitis HBsAG, anti-HCV, anti-HIV1 i anti-HIV2 te je utvrđeno da je negativan. Bez obzira na to, materijali sadrže tvari ljudskog i životinjskog podrijetla i njima se mora rukovati s oprezom. Odlaganje svih odbačenih materijala treba biti u skladu s lokalnim zahtjevima.

### Skladištenje i stabilnost reagensa

Rok valjanosti neotvorenih reagensa pri temperaturi 2 – 8 °C: Vidjeti datum isteka roka valjanosti naveden na naljepnici. Stabilnost nakon otvaranja: Do roka valjanosti kada koristite čvrste zatvarače na temperaturi 2 - 8°C. Stabilnost u uporabi: 28 dana kada koristite zatvarače protiv isparenja.

### Prikupljanje uzoraka i rukovanje uzorcima

Materijal potreban za uzorke humani je serum ili EDTA / heparinirana plazma. Preporučuje se da se uzorci analiziraju u najsvježijem dostupnom stanju. Međutim, testiranje stabilnosti uzoraka pokazalo je da je cistatin C stabilan u uzorcima seruma i plazme 26 dana na sobnoj temperaturi (8 – 25 °C) ili 26 dana ako se uzorci čuvaju na temperaturi 2 – 8 °C. Osim toga, objavljeno je da se uzorci mogu čuvati na temperaturi manjoj od -70 °C do najviše 5 godina [6]. Uzorke treba dobro promiješati prije provedbe analize.

### Postupak analize

#### Napomene za primjenu / instaliranje analize

Detaljan popis parametara instrumenta naveden je niže u odjeljku „Postavke instrumenta”. Napomena za primjenu također je dostupna na: [www.gentian.com](http://www.gentian.com). Postavljanje i održavanje instrumenta, rad s instrumentom i mjere opreza trebaju se provoditi u skladu s priručnicima za instrumente serije IMMAGE® društva Beckman Coulter®.

## Priprema reagensa

Reagens je isporučen spreman za prijenos u IMMAGE reagens patronu. Prenesite sadržaje reagensa 1 i reagensa 2 u odgovarajuće odjeljke korisnički definirane patrone kao što je prikazano na donjoj tablici i stavite zatvarače protiv isparenja kada iste koristite. Koristite pažljivo da biste izbjegli onečišćenje. Kada ih ne upotrebljavate, reagense čuvajte s originalnim čvrstim zatvaračima na temperaturi 2 – 8°C.

Komplet citastina C	Odjeljak A	Odjeljak B
R1, Reagensni pufer	-	8,5 ml
R2, Imunočestice	1,5 ml	-

## Utvrđivanje kalibracijske krivulje

Primijenite standarde 1. do 6. kako biste utvrdili standardnu krivulju od 6 točaka kako je definirana u priručnicima za instrumente sustava serije IMMAGE® društva Beckman Coulter®. Vrijednosti kalibratora ovise o proizvodnoj seriji i potrebno je provesti novu kalibraciju svaki puta kada se upotrebljava nova proizvodna serija kalibratora. Dodijeljene vrijednosti kalibratora navedene su na listu s analitičkim vrijednostima koji se isporučuje s kalibratorom. Novu kalibraciju potrebno je provesti jednom svaka 4 tjedna.

## Kontrole kvalitete

Niske i visoke kontrole moraju se testirati svaki dan prije početka mjerenja uzoraka kako bi se potvrdila kalibracijska krivulja. Kontrole imaju dodijeljeni raspon vrijednosti koji se mora zadovoljiti prije mjerenja uzoraka. Dodijeljene vrijednosti navedene su na listu s analitičkim vrijednostima koji se isporučuje s kompletom kontrola za citatin C društva Gentian. Ako kontrolne vrijednosti nisu valjane, ponovite mjerenja kontrola. Ako nije moguće provesti kalibraciju bez pogreške ili reproducirati valjane kontrolne vrijednosti, obratite se društvu Beckman Coulter® za potporu.

## Mjerenje uzoraka bolesnika

Kada je provedena valjana kalibracija i kontrolne vrijednosti su unutar valjanog raspona, mogu se mjeriti uzorci seruma ili plazme. Provjerite je li prisutan minimalan volumen uzorka i analizirajte uzorke prema uputama koje su navedene u priručnicima za instrumente sustava serije IMMAGE® društva Beckman Coulter®.

## Rezultati

Sustav serije IMMAGE® društva Beckman Coulter® automatski izračunava rezultate. Rezultati se prikazuju u mg/l.

## Ograničenja

Materijali se ne bi smjeli upotrebljavati nakon isteka roka valjanosti.

## Raspon mjerenja

Raspon mjerenja citastina C za analizu jest približno 0,4 – 8,0 mg/l. Točni raspon ovisi o postavljenim točkama kalibratora broja proizvodne serije kompleta kalibratora za citastin C društva Gentian.

## Referentni intervali

Društvo Gentian postupa u skladu sa Smjernicama C28-A2 Instituta za kliničke i laboratorijske standarde [CLSI-a]; *Kako definirati i utvrditi referentne intervale u kliničkom laboratoriju; odobrene smjernice, drugo izdanje* kako bi utvrdilo prenosivost referentnog intervala. Referentni interval temelji se na ispitivanju referentnog intervala koje je provedeno u Bolnici Växjö u Švedskoj i koje je uključivalo uzorke seruma od 136 ispitanika u dobi od 20 – 80 godina koji su za sebe smatrali da su zdravi. Uzorci su analizirani za citatin C na platformi AU 2700. Referentni interval je izračunan neparametarski i određen je biti 0,53 , 1,01 mg/l. Ovo predstavlja središnjih 95% svog testiranog stanovništva. Preporučuje se da svaki laboratorij odredi lokalni referentni interval jer vrijednosti mogu varirati ovisno o testiranoj populaciji.

## Značajke performansi

Sve su studije provedene korištenjem jedne proizvodne serije reagensa u jednom laboratoriju osim ako nije drugačije navedeno.

## Preciznost

Imunoanaliza citastina C društva Gentian upotrebljavala se u trodnevnom ispitivanju preciznosti koje je osmišljeno u skladu s planom ispitivanja EP5-A Instituta za kliničke i laboratorijske standarde. Sustavom IMMAGE 800\* društva Beckman Coulter® mjerena su četiri miješana seruma i 2 kontrolne razine.

ID	Srednja vrijednost (mg/l)	KV (%) unutar testa	Ukupan KV (%)	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

## Linearnost

Imunoanaliza citastina C društva Gentian je korištena u linearnoj studij na sustavu IMMAGE 800, posmatran je linearni raspon od 0,35 , 6,79 mg-l. Koncentracije izvan ovog raspona nisu pretražene.

## Analitička iskoristivost

Upotrebom imunoanalize citastina C društva Gentian na instrumentu IMMAGE 800 društva Beckman Coulter® zabilježena je iskoristivost od 100–110 %.

## Granica kvantifikacije

Granica kvantifikacije definirana je kao najmanja stvarna količina analita koja se može pouzdano detektirati i pri kojoj ukupna pogreška ispunjava zahtjeve za točnost.

Upotrebom analize citastina C društva Gentian na instrumentu IMMAGE 800 izmjereno je da donja granica kvantifikacije iznosi 0,24 mg/l.

## Sigurnosna zona

Upotrebom analize citastina C društva Gentian u ispitivanju na sustavu IMMAGE 800 sigurnosna zona za višak antigena protezala se do 43 mg/l.

## Interferencija

Ispitivanjem nije utvrđena znatna interferencija s hemoglobinom (8 g/l), Intralipidom (16 g/l) ni bilirubinom (800 mg/l) u uzorcima citastina C. Ispitivanje interferencije osmišljeno je u skladu s planom ispitivanja EP7-A Instituta za kliničke i laboratorijske standarde [7]. Prethodno nije utvrđena znatna interferencija s lijekovima koji su ispitani u skladu s preporukama iz publikacije Sonntag i Scholer [8]. U imunoanalizi citastina C društva Gentian nije prisutna RF interferencija jer su protutijela proizvedena upotrebom ptičjih (pilećih) protutijela [9].

## Varijacija instrumenta

Izmjerena je varijacija instrumenta za citatin C društva Gentian između instrumenata IMMAGE i Hitachi 917, a rezultati su analizirani primjenom analize regresije Passing-Bablok:

Metode	N	Uzorački raspon (mg/l)	Uvjet	Koeficijent	95% interval pouzdanosti koeficijenta
IMMAGE 800 nasuprot Hitachi 917	24	0,58 - 6,97	Odsječak Nagib	0,08 1,01	0,05 - 0,11 0,99 – 1,03

## Dodatne informacije

Detaljnije informacije o sustavima serije IMMAGE® potražite u odgovarajućem priručniku sustava. S obzirom na to da društvo Beckman Coulter® ne proizvodi reagens i ne provodi kontrolu kvalitete ni druga testiranja na pojedinačnim proizvodnim serijama, društvo Beckman Coulter® ne može se smatrati odgovornim za kvalitetu dobivenih podataka na koju utječu performanse reagensa, bilo kakva varijacija među proizvodnim serijama reagensa ili proizvođačeve promjene protokola.

## Oštećenje tijekom otpreme

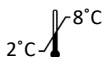
Obavijestite svog distributera ako je ovaj proizvod bio oštećen kada ste ga zaprimili. Za tehničku podršku obratite se svom lokalnom predstavniku društva Beckman Coulter®. Za druge jezike posjetite:

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

## Objašnjenje simbola



Broj proizvodne serije



Temperaturno ograničenje



Rok valjanosti



Više informacija potražite u uputama za upotrebu



Proizvođač



Kataloški broj



*In vitro* dijagnostički medicinski proizvod



Oprez



Biološki rizici



**Gentian AS** **CE**

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norveška

TEL: +47 99 33 99 05

FAX: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.com>

## Bibliografija

1. Abrahamson M i dr.: *Biochem J* 1990.; 268: 287. – 94.
2. Laterza OF i dr.: *Clin Chem* 2002.; 48: 63. – 99.
3. Grubb AO. *Adv Clin Chem* 2000.; 35: 63. – 99.
4. Filler G i dr.: *Clin Biochem* 2005.; 38: 1. – 8.
5. Flodin M i dr.: *Scand J Clin Lab Invest* 2007.; 67: 560. – 567.
6. Shlipak M.G. i dr.: *Clinical Chemistry* 57: 737-745, 2011
7. Institut za kliničke i laboratorijske standarde [CLSI]; Dokument EP7-A; Testiranje interferencije u kliničkoj kemiji; Odobrene smjernice.
8. Sonntag O, Scholer A: *Ann Clin Biochem* 2001.; 38: 376. – 85.
9. Larsson A i dr.: *Poultry Science* 1993.; 72: 1807. – 1812.

# Postavke instrumenta za imunoanalizu Cistatina C na sustavima IMMAGE\* (IMMAGE 800) društva Beckman Coulter®

## Stranica 1

Naziv pretrage: cysx	Jedinica: mg/l
Broj proizvodne serije reagensa: *	Protokol: Nenatjecateljski NIPIA
Broj patrone: **	Rok valjanosti reagensa: *
Serijski broj reagensa: **	Pretrage po proizvodnoj seriji: 40
Ograničenje AGXS:	Omogućeni AGXS:

## Stranica 2

Pufer: BUF10	Otapalo: DIL10
Volumen uzorka: 5 µl	Razrjeđivanje kalibratora: 1:1
Volumen reakcijskog pufera: 0 µl	Razrjeđivanje uzorka: 1:1
Volumen reagensa A: 30 µl	Vrijeme reakcije: 5 minuta
Volumen reagensa B: 195 µl	

## Stranica 3:

Razine: 6	Razina kalibratora
Ponavljanja: 2	Razina 1:*
Ažuriranje razine: 3	Razina 2: *
Ponavljanja: 2	Razina 3: *
Vrsta kalibracije: 3.narudžba polinoma	Razina 4: *
	Razina 5: *
	Razina 6: *

## Nagib i protuteža (pod ,Reagens i kalibracija')

Čimbenik a (a·x + b) : 1,10

Prenesite pufer za analizu citastina C društva Gentian u odjeljak B i imunočestice citastina C društva Gentian u odjeljak A. Maksimalni volumen odjeljka „A“ i „B“ UDR patrona je 8.5 ml. Stoga je maksimalni broj pretraga unijetih u patronu blizu 40 pretraga.

\*Ovisno o proizvodnoj seriji

\*\* Definiira korisnik