

Cystatin C



Alkalmazási megjegyzések a Beckman Coulter® IMAGE® 800 SYSTEMS rendszereken végezhető Cystatin C Immunoassay vizsgálathoz

Az A52761 Cystatin C reagenskészlet és az IMAGE felhasználó által meghatározott reagenspatronok használatával

Alkalmazási terület

A Beckman Coulter® IMAGE® rendszerekkel használható Cystatin C immunoassay egy *in vitro* diagnosztikai teszt a humán szérumban és plazmában található cisztatin C kvantitatív meghatározására. A cisztatin C-mérés a vesebetegségek diagnózisához és kezeléséhez használható.

A teszt összefoglalása és magyarázata

A cisztatin C (molekuláris tömeg: 13,2 kD) nem glikozilált alapfehérje, ami az emberi test szinte minden, sejttaggal rendelkező sejtjében állandó ütemben termelődik [1]. Egészséges glomeruláris membrán esetén szabadon filtrálódik, majd újra felszívódik és majdnem teljesen katabolizálódik a proximális tubulusokban. A cisztatin C koncentrációja az emberi vérben így szorosan összefügg a glomeruláris filtrációs rátával (GFR) [2]. A GFR csökkenése a cisztatin-C-koncentráció emelkedését idézi elő. Semmilyen kutatás nem mutatta ki, hogy a cisztatin-C-koncentrációt egyéb faktorok – mint például az izomtömeg, gyulladásos betegségek, a nem, életkor vagy éttrend – szignifikánsan befolyásolják [2, 3, 4].

Kalibrálókra vonatkozó szabvány

A Gentian Cystatin C kalibrálószere megfelel az ERM-DA471/IFCC jelzetű nemzetközi kalibrátorszabványnak.

Becsült GFR kiszámítása

Számos, cisztatin C-re alapuló predikciós egyenletet tettek már közzé a felnőtt és gyermek páciensek GFR-szintjének kiszámítására. Megjegyzendő, hogy ezeket a képleteket különböző cisztatin C-assay-ekkel értékelték ki (szemcsékkel erősített nefelometrius immunoassay (PENIA) vagy szemcsékkel erősített turbidimetriás immunoassay (PETIA)) ezért nem megfelelő képlet/assay kombináció használata esetén pontatlan GFR-eredményt adhatnak. A Gentian assay-vel mért cisztatin C-értékekből számolt GFR-hez a következő predikciós egyenlet használata javasolt mg/L mértékegységfaktorial [5]: Az egyenlet 14 évesnél idősebb személyek esetén alkalmazható.

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

Az assay működési elve

A humán szérumban vagy plazmamintát összekeverik a cisztatin C immunrészecskével. A mintából származó cisztatin C és az immunrészecskékből származó anticisztatin C egyesülnek. Az így keletkezett komplex részecskék elnyelik a fényt, az elnyelődés pedig a turbidimetria révén a cisztatin-C-koncentrációhoz viszonyíthatóan egy elfogadott, standard kalibrációs görbén való interpoláció segítségével. Az IMAGE® platformok automatikusan kiszámolják az eredményeket.

A reagenskészletben található reagens

Reakciós puffer 1 (R1)

Cisztatin C reakciópuffer, 1 db 100 mL-es ampulla. Az R1 egy MOPS [3-(N-morforlin)-propánszulfonsav] pufferes sóoldat nátrium-aziddal tartósítva (0,09% (m/t)). A puffer használatra készen áll.

Reakciós puffer 2 (R2):

Cisztatin C immunrészecskék, 2 db 10 mL-es ampulla. Az R2 a polisztirol részecskékhöz kovalens kötéssel kapcsolódó cisztatin C ellen irányított, tisztított immunglobulin-frakcióként megjelenő immunrészecskéket tartalmaz. A humán cisztatin C-t az immunrészecskék előállításánál immunogénként használták fel. Használatra kész szuszpenzió formájában kerül kiszerezésre, 0,09% (m/t) nátrium-aziddal és antibiotikummal tartósítva.

A CYSX IMAGE REF B69746 értékesítési csoportba tartozó elemek:	
Gentian Cystatin C reagenskészlet	REF A52761
Felhasználó által meghatározott reagenspatron (10 db-os csomag)	REF 447250
Evaporációs kupakok (20 db-os csomag)	REF 447170
Szükséges elemek (nem tartalmazza):	
Gentian Cystatin C kalibrálókészlet (6 x 1 ml)	REF A52763
Gentian Cystatin C kontrollkészlet, magas & alacsony (2 x 1 ml)	REF A52765

Figyelmeztetések és Óvintézkedések

- Ez a teszt kizárólag *in vitro* használatra alkalmas, és kizárólag képzett szakemberek végezhetik el.
- A reagens antibiotikumot tartalmaznak, és kellő óvatossággal kell kezelni őket.
- A reagens nátrium-azid tartósítószerrel tartalmaznak, és kellő óvatossággal kell kezelni őket: Ne nyelje le, és ne hagyja, hogy a bőrrel vagy a nyálkahártyával érintkezzen! A termék nátriumazid-tartalma nem minősül veszélyesnek. Ugyanakkor az ólom- és rézszennyezésben felhalmozódó Na₂S₂O₈ robbanékony fémazidok kialakulásához vezethet. Ennek megelőzése érdekében a lefolyóba öntés előtt alaposan ki kell öblíteni a terméket.
- Az immunrészecskék állati eredetű anyagokat tartalmaznak. A már nem használt anyagok hulladékkezelése meg kell, hogy feleljen a helyi előírásoknak.
- A kalibráló- és kontrollanyagok gyártása során felhasznált szérumban hepatitisz HBsAg-, anti-HCV-, anti-HIV1- és anti-HIV2-tesztje is negatív volt. Mindazonáltal az anyagok emberi és állati eredetű alkotóelemeket tartalmaznak, és kellő óvatossággal kell kezelni őket. A már nem használt anyagok hulladékkezelése meg kell, hogy feleljen a helyi előírásoknak.

A reagens tárolása és stabilitása

Bontatlan reagens szavatossági ideje 2–8°C-on: Lásd a lejárat dátumot a címkén. Felbontás utáni stabilitás: Kemény kupakok használata esetén 2–8°C-on lejáratú idő. Használat közbeni stabilitás: 28 nap, evaporációs kupakok használata esetén.

Minták gyűjtése és kezelése

A szükséges mintaanyag a humán szérumban vagy EDTA/heparinált plazmában. A mintákat ajánlott a levételt követően minél gyorsabban megvizsgálni. A mintastabilitási tesztek szerint azonban a cisztatin C a szérumban és plazmamintákban szobahőmérsékleten (8–25°C), illetve 2–8°C-on tárolva is 26 napig stabil. Kimutatták továbbá, hogy a mintákat -70°C alatt legfeljebb 5 évig lehet tárolni [6]. A mintákat a vizsgálat előtt alaposan homogénizálni kell.

* A Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821 bejegyzett védjegye

Assay vizsgálati eljárás

Alkalmazási leírás / Assay telepítés

A részletes eszközparaméter-lista alább, az „Eszközparaméterek” részben található. Az alkalmazási megjegyzések a következő címen is elérhetők: www.gentian.com. A terméket a Beckman Coulter® IMMAGE® eszközök kézikönyveinek megfelelően kell összeszerelni, karbantartani és üzemeltetni, továbbá az útmutatókban foglalt óvintézkedéseket is be kell tartani.

A reagensek előkészítése

A reagenst az IMMAGE reagenskazettába való betöltésre kész állapotban szállítják. Az alábbi táblázatban bemutatottan megfelelően töltsé be az 1. és a 2. reagens tartalmát a felhasználó által meghatározott patron megfelelő rekeszeibe, és használja a párolgási sapkákat. A szennyeződés elkerülése érdekében megfelelő körülményekkel járjon el. Használton kívül a reagenseket 2–8°C-on, az eredeti kemény kupakkal lezárva kell tárolni.

Cystatin C készlet	„A” rekesz	„B” rekesz
R1, reagenspuffer	-	8,5 mL
R2, immunrézecskek	1,5 mL	-

A kalibrációs görbe megállapítása

A 6-pontos standard görbe meghatározásához használja az 1-től 6-ig számozott standardokat a Beckman Coulter® IMMAGE® rendszerek használati utasításaiban leírtak szerint! A kalibrálóértékek tételfüggőek, ezért minden alkalommal, amikor új tételt kezdenek el használni, új kalibrációt kell végezni. A kalibrálószerszámhoz tartozó értékei a mellékelt analitikai értéktáblázatban találhatóak. 4 hetente egyszer új kalibrációt kell végezni.

Minőségellenőrzési kontrollok

Az alacsony és magas kontrollokat a kalibrációs görbe validálásához a mintavizsgálat megkezdése előtt naponta meg kell vizsgálni. A kontrollokhoz hozzárendelt értéktartomány megfeleléséről a minták mérése előtt meg kell bizonyosodni. A hozzárendelt értékek a Gentian Cystatin C kontrollkészlethez mellékelt analitikai értéktáblázatban találhatóak. Amennyiben a kontrollértékek nem érvényesek, a kontrollméréseket meg kell ismételni. Ha a kalibrációt nem lehet hiba nélkül elvégezni, vagy lehetetlen érvényes kontrollértékeket reprodukálni, segítségért vegye fel a kapcsolatot a Beckman Coulter®-rel!

A páciensminták mérése

Ha az elvégzett kalibráció érvényes, és a kontrollértékek is az érvényes tartományon belül vannak, el lehet végezni a szérumszám vagy plazma mérését. Ellenőrizze, hogy a minta térfogata eléri-e a minimális mennyiséget, majd vizsgálja meg a mintákat a Beckman Coulter® IMMAGE® rendszerek használati utasításainak megfelelően!

Eredmények

Az eredményeket a Beckman Coulter® IMMAGE® rendszerek automatikusan kiszámítják. Az eredményeket mg/L-ben adják meg.

Korlátozások

Az anyagokat nem szabad a lejárat dátum után használni.

Mérési tartomány

Az assay cisztatin C-re vonatkozó mérési tartománya hozzávetőlegesen 0,4–8,0 mg/L. A pontos tartomány az adott tételszámú Gentian Cystatin C kalibrátorkészlet kalibrációs pontjaitól függ.

Referenciaintervallumok

A Gentian a C28-A2; *Hogyan definiáljunk és határozzunk meg referenciaintervallumokat klinikai laboratóriumokban; Jóváhagyott iránymutatás. Második kiadás* című CLSI-iránymutatást követi a referenciaintervallum transzferabilitásának meghatározásához. A referenciaintervallum a svédországi Växjö kórházban elvégzett referenciaintervallum-vizsgálaton alapul, amelyben 136, saját magát egészségesnek valló, 20–80 éves alanytól vett szérumszámot vizsgáltak meg. A mintákban a cisztatin C koncentrációját vizsgálták az AU 2700 platformmal. A referenciaintervallumot nem parametrikusan számították ki, és 0,53-1,01 mg/L értékben határozták meg. Ez a teljes tesztelt populáció középső 95%-át képviseli. Javasoljuk, hogy minden laboratórium lokális referenciaintervallumot határozzon meg, mert az értékek a vizsgált populációtól függően változhatnak.

* A Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821 bejegyzett védjegyei

Teljesítményjellemzők

Eltérő rendelkezés hiányában valamennyi vizsgálatot egyetlen tételből származó reagensek felhasználásával, egyetlen laboratóriumban végezték el.

Pontosság

A Gentian Cystatin C Immunoassay-t 3 napos pontossági tanulmányban alkalmazták a CLSI EP5-A protokolljának megfelelően. 4 szérumkeveréket és 2 kontrollszintet mértek meg az Beckman Coulter® IMMAGE 800* rendszerrel.

Azon osító	Átlagérték (mg/L)	Futáson belüli KÉ (%)	Teljes KÉ (%)	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

Linearitás

A Gentian Cystatin C immunoassay-t egy lineáris vizsgálatban alkalmazták az IMMAGE 800 rendszeren, és 0,35-6,79 mg/L lineáris tartományt figyeltek meg. Az ezen a tartományon kívüli koncentrációkat nem tesztelték.

Analitikai visszanyerés

A Gentian Cystatin C Immunoassay-t egy Beckman Coulter® IMMAGE 800 eszközön alkalmazva 100-110%-os visszanyerést figyeltek meg.

Kvantifikációs határ

A kvantifikációs határ definíció szerint egy vizsgált anyag legkisebb tényleges mennyisége, amely bizonyítottan kimutatható és amelynél az összesített hibaarány megfelel a pontossági követelményeknek.

A Gentian Cystatin C assayt Beckman Coulter® IMMAGE 800 eszközön alkalmazva alacsonyabb, 0,24 mg/l-es kvantifikációs határt figyeltek meg.

Biztonsági sáv

Az IMMAGE 800-zal végzett egyik tanulmány során az antigéntöbblet biztonsági sávja 43 mg/l-ig bővült a Gentian Cystatin C assay alkalmazásakor.

Interferencia

Nem találtak szignifikáns interferenciát a cisztatin-C-mintákban egy haemoglobinnal (8 g/L), intralipiddel (16 g/L) illetve bilirubinnal (800 mg/L) végzett tanulmányban. Az interferenciatanulmányt a CLSI EP7-A protokolljának megfelelően tervezték meg [7]. Korábban a Sonntag és Scholer publikációjában közzétett ajánlás szerint vizsgált gyógyszerekkel sem találtak szignifikáns interferenciát [8]. A Gentian Cystatin C Immunoassay-ben nincs jelen RF-interferencia, mert az antitesteket madártól (csirkétől származó) antitestek felhasználásával állították elő [9].

Eszközök közötti eltérések

Megmérték a Gentian Cystatin C eltéréseit az IMMAGE és a Hitachi 917 eszközökön, majd az eredményeket a Passing-Bablok regresszióanalízis alapján elemezték:

Módszerek	N	Mintatartomány (mg/L)	Megnevezés	Koefficiens	Koefficiens, 95%-os KÉ
IMMAGE 800 vs. Hitachi 917	24	0,58 - 6,97	Tengelymetszet Meredekség	0,08 1,01	0,05 - 0,11 0,99 - 1,03










További információk

Ha részletesebb információt szeretne kapni az IMMAGE® rendszerekről, olvassa el a megfelelő rendszerhez tartozó kézikönyvet! Mivel nem a Beckman Coulter® gyártja a reagenseket, sem minőségellenőrzést, sem más tesztek nem végez az egyes tételeken, a Beckman Coulter® nem tehető felelőssé sem a reagensek teljesítményéből adódó adatok minőségéért, sem a reagenstételek közötti eltérésekért, sem a gyártó protokollváltoztatásai miatt.

Szállítási kár

Kérjük, értesítse beszállítóját, ha a termék sérülten érkezett! Műszaki támogatásért keresse fel a Beckman Coulter® területi képviselőjét! Más nyelven elérhető leírásokhoz látogasson el a következő oldalra: <https://www.gentian.com/clinical-diagnostic-products/beckman-coulter-customers-cystatin-c>

A szimbólumok jelentése

	Tételszám
	Hőmérséklethatár
	Lejáratási idő
	Lásd a használati útmutatót!
	Gyártó
	Katalógusszám
	In vitro diagnosztikai orvosi eszköz
	Vigyázat
	Biológiai kockázat



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

Bibliográfia

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 EP7-A ; Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.
8. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001 ;38 :376-85.
9. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1812.

Eszközbeállítások a Beckman Coulter® IMMAGE rendszereken*(IMMAGE 800) végezhető Cystatin C Immunoassay vizsgálathoz

1. oldal

Teszt megnevezése: CYSX

Egység: mg/L

Reagens tételszáma: *

Protokoll: Nem kompetitív NIPIA

Patron száma: **

Reagens lejárat ideje: *

Reagent sorozatszám: **

Teszt tételenként: 40

AGXS limit:

AGXS engedélyezve:

2. oldal

Puffer: BUF10

Oldószer: DIL10

Minta térfogata: 5 µL

Kalibrálószer hígítása: 1:1

Reakciópuffer térfogata: 0 µL

Minta hígítása: 1:1

„A” reagens térfogata: 30 µL

Reakcióidő: 5 perc

„B” reagens térfogata: 195 µL

3. oldal:

Szintek: 6

Kalibrálószer szintje

1. szint: *

Ismétlések: 2

2. szint: *

Szint frissítése: 3

3. szint: *

Ismétlések: 2

4. szint: *

Kalibráció típusa: 3. rendű polinom

5. szint: *

6. szint: *

Meredekség és offset („Reagens és kalibrálás” alatt)

Faktor a (a·x + b): 1,10

Töltse a Gentian Cystatin C Assay puffert a „B” rekeszbe, a Gentian Cystatin C immunrészecskéket pedig az „A” rekeszbe. Az UDR patron „A” és „B” rekeszének maximális térfogata 8,5 mL. Ezért a patronba tölthető tesztek maximális száma megközelítőleg 40 teszt.

* Tételfüggő

** Felhasználó által meghatározott