

Applikasjonsnote for Cystatin C immunoanalyse for IMMAGE® 800-instrumentet fra Beckman Coulter®

Med Gentian Cystatin C reagenskit A52761 og brukerdefinerte IMMAGE reagenskassetter

Bruksområde

Cystatin C immunoanalyse for Immage®-instrumentet fra Beckman Coulter® er en *in vitro*-diagnostisk test for kvantifisering av cystatin C i humant serum og human plasma. Målingen av cystatin C brukes for diagnostisering og behandling av nyresykdommer.

Sammendrag og forklaring av testen

Det ikke-glykosylerte basiske proteinet cystatin C (molekylvekt 13,2 kD) produseres med konstant hastighet i nesten alle celler som inneholder cellekjerne i menneskekroppen [1]. Det filtreres fritt gjennom en normal glomerulusmembran, og blir deretter reabsorbert og nesten fullstendig katabolisert i proksimale tubuli. Det er derfor en tett sammenheng mellom konsentrasjonen av cystatin C i humant blod og den glomerulære filtrasjonshastigheten (GFR) [2]. En redusert GFR leder til en økning i konsentrasjonen av cystatin C. Det har ikke blitt vist at konsentrasjonen av cystatin C blir påvirket signifikant av andre faktorer sånn som muskelmasse, inflammatoriske sykdommer, kjønn, alder eller kosthold [2, 3, 4].

Kalibratorstandardisering

Gentian Cystatin C-kalibratoren er standardisert mot den internasjonale kalibratorstandard ERM-DA471/FCC.

GFR beregning

Flere cystatin C-baserte metoder for å beregne GFR hos barn og voksne har blitt publisert. Det bør merkes at disse formlene har blitt utviklet med ulike cystatin C-analysemetoder (partikkelforsterket nefelometrisk immunoanalyse, PENIA, eller partikkelforsterket turbidimetrisk immunoanalyse, PETIA) og kan gi unøyaktige GFR-resultater ved feilaktig kombinasjon av formel og analysemetode. For beregning av GFR basert på cystatin C-verdiene målt med Gentian-analysen er det anbefalt følgende formel med mg/l som enhet [5]: Formelen er gyldig for personer over 14 år.

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

Analyseprinsipp

Human serum- eller plasmaprøver blandes med cystatin C-immunopartikler. Cystatin C fra prøven og anti-cystatin C fra immunpartikkelen aggregerer. Partikkelkompleksene som dannes absorberer lys og ved turbidimetrisk analyse blir absorpsjonsendringen relatert til en cystatin C konsentrasjon ved å interpolere mot en etablert standard kalibreringskurve. Immage-instrumentet beregner resultatene automatisk.

Reagenser i reagenskitet

Reaksjonsbuffer 1 (R1):

Cystatin C reaksjonsbuffer, 1 flaske med 100 ml. R1 er en MOPS [3-(N-morfolino)-propansulfonat] buffret saltløsning konserverert med natriumazid (0,09 % (v/v)). Bufferen er klar til bruk.

Reaksjonsbuffer 2 (R2):

Cystatin C-immunopartikler, 2 flasker à 10 ml. R2 inneholder immunopartikler bestående av en rensset immunglobulinfraksjon rettet mot cystatin C, som er kovalent bundet til uniforme polystyrenpartikler. Humant cystatin C benyttes som immunogen i fremstillingsprosessen av immunpartiklene. Immunpartiklene er klare til bruk. De konserveres med 0,09 % (w/v) natrium azide og antibiotika.

| Produkter som er inkludert i CYSX IMMAGE salgs kode REF B69746 : | |
|--|------------|
| Gentian Cystatin C reagenskit | REF A52761 |
| Brukerdefinert reagenskasset (pk. à 10 stk) | REF 447250 |
| Fordampningslokk (pk. à 20 stk) | REF 447170 |
| Nødvendige produkter (ikke inkludert) | |
| Gentian Cystatin C kalibrator (6 x 1 ml) | REF A52763 |
| Gentian Cystatin C kontrollkit, lav & høy (2 x 1 ml) | REF A52765 |

Advarsler og forholdsregler

1. Denne testen er kun for *in vitro* diagnostisk bruk og må kun håndteres av kvalifisert personell.
2. Reagensene inneholder antibiotika og må håndteres med påkrevd forsiktighet.
3. Reagensene inneholder natriumazid og må håndteres med påkrevd forsiktighet: Må ikke svelges. Unngå kontakt med hud og slimhinner. Konsentrasjonen av natriumazid i dette produktet er ikke klassifisert som farlig. Likevel er det verdt å merke seg at akkumulert NaN₃ i bly- og kobber-rør kan generere eksplorative metallazider. For å hindre dette, skylld godt med vann om produktet helles i sluk.
4. Immunpartiklene inneholder substanser med animalsk opprinnelse. Avfallet må derfor behandles i henhold til gjeldende lover og forskrifter.
5. Serum brukt til å produsere kalibratoren og kontroller har blitt testet med negativt resultat for hepatitt HBsAG, anti-HCV, anti-HIV1 og anti-HIV2. Til tross for dette inneholder materialet substanser med human og animal opprinnelse og det må derfor håndteres med påkrevd forsiktighet. Avfall må behandles i henhold til gjeldende lover og forskrifter.

Reagensoppbevaring og -stabilitet

Holdbarhet for uåpnet reagens oppbevart ved 2-8 °C: Se utløpsdato på etiketten. Stabilitet etter åpning: frem til utløpsdato oppbevart med hard kork ved 2-8 °C. Stabilitet i bruk: 28 dager ved bruk av fordampningslokk. Produkter med utløpsdato oppgitt i år- og månedsformat utløper den siste dagen i den angitte måneden.

Prøveinnsamling og håndtering

Prøvematerialet må være humant serum eller EDTA-/heparinisert plasma. Det er anbefalt at prøvene er så ferske som mulig ved analyse. Stabilitetstester har dog vist at cystatin C i serum- og plasmaprøver er stabilt i 26 dager ved romtemperatur (8-25 °C) eller i 26 dager ved oppbevaring ved 2-8 °C. Det finns publiserte resultater som oppgir at prøver også kan oppbevares under -70 °C i opp til 5 år [6]. Prøvene må blandes godt før analysing.

Analyseprosedyre

Applikasjonsnote/analyseinnstillinger

I avsnittet "Instrumentinnstillinger" under finnes en detaljert liste med instrumentparametere. Den finnes også på: www.gentian.com. Anvisningene og forhåndsreglene beskrevet i brukermanualen til IMMAGE®-instrumentet fra Beckman Coulter® må følges ved innstilling, vedlikehold og bruk.

Forberedelser

Reagensen leveres klar for overføring til IMAGE-reagenskassetten. Overfør innholdet av reagens 1 og reagens 2 til rett kammer i den brukerdefinerte kassetten som beskrevet i tabellen under og sett på fordampingslokket. Vær nøye med å unngå kontaminering. Reagensene skal oppbevares med originale harde lokk ved 2–8 °C når de ikke er i bruk.

| Cystatin C kit | Kammer A | Kammer B |
|---------------------|----------|----------|
| R1, Reagensbuffer | - | 8,5 ml |
| R2, Immunopartikler | 1,5 ml | - |

Etablering av kalibreringskurven

Bruk standardene 1 til 6 for etablering av en 6 punkts standardkurve som definert i brukermanualene til IMAGE®-instrumentene fra Beckman Coulter®. Kalibratorverdiene er lot-spesifikke og en ny kalibrering må utføres når en ny kalibratorlot tas i bruk. De fastsatte kalibreringsverdiene er oppgitt i analyseverdidokumentet som følger med kalibratoren. En ny kalibrering bør utføres hver 4. uke.

Kvalitetskontroll

De lave og høye kontrollene må analyseres hver dag for å validere kalibreringskurven før en prøve kan analyseres. Kontrollene har et fastsatt verdiområde som må oppnås innen prøver kan analyseres. De fastsatte kontrollverdiene er oppgitt i analyseverdidokumentet som følger med Gentian Cystatin C kontrollkit. Hvis kontrollverdiene ikke er gyldige må kontrollmålingene repeteres. Kontakt Beckman Coulter® for brukerstøtte hvis det ikke er mulig å utføre en feilfri kalibrering eller hvis gyldige kontrollverdier ikke kan reproduseres.

Måling av pasientprøver

Når en gyldig kalibrering har blitt utført og kontrollverdiene ligger innenfor de gitte verdiområdene, kan serum- eller plasmaprøver analyseres. Kontroller at prøvevolumet minste prøvevolum er tilgjengelig og analyser prøvene som beskrevet i brukermanualen til IMAGE®-instrumentet fra Beckman Coulter®.

Resultater

Resultatene beregnes automatisk av IMAGE®-instrumentet fra Beckman Coulter®. Resultatene oppgis i mg/l.

Begrensninger

Materialet skal ikke brukes etter utløpsdato.

Måleområde

Analysens måleområde for cystatin C er ca. 0,4–8,0 mg/l. Det eksakte området avhenger av de lot-spesifikke kalibratorverdiene.

Referanseintervall

Gentian følger CLSI Guideline, C28-A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* for å bestemme referanseintervallets overførbarhet. Referanseintervallet er basert på et studie gjennomført på Växjö Sykehus med serumprøver fra 136 selverklærte friske individer i alderen 20 til 80 år. Prøvene ble analysert for cystatin C på instrumentet AU2700. Referanseintervallet ble beregnet til å være 0,53–1,01 mg/l. Dette representerer den midterste 95% av den testede populasjonen. Fordi referanseintervallet kan variere avhengig av populasjonen som testes anbefales det at hvert laboratorium bestemmer et lokalt referanseintervall.

Ytelseskarakteristikk

Alle studier har blitt utført med bruk av en reagenslot i ett laboratorium hvis ikke annet angis.

Presisjon

Gentian Cystatin C ble brukt i en 3-dagers presisjonsstudie i henhold til CLSI-protokollen EP5-A. 3 serumpooler og 2 kontrollnivåer ble målt på IMAGE 800®-instrumentet fra Beckman Coulter®.

| ID | Gjennomsnittsverdi (mg/l) | Innenkjøring CV (%) | Total 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 |

Linearitet

Gentian Cystatin C immunoanalyse ble brukt i en linearitetsstudie på IMAGE 800-instrumentet, hvor et lineært område på 0,35–6,79 mg/l ble observert. Konsentrasjoner utenfor dette området har ikke blitt testet.

Analytisk gjenvinningsgrad

En gjenvinningsgrad på 100–110 % ble observert for Gentian Cystatin C immunoanalyse på et IMAGE 800-instrument fra Beckman Coulter®.

Kvantifiseringsgrense

Kvantifiseringsgrensen er definert som den laveste faktiske målingen av en analytt som kan påvises pålitelig og hvor totalfeil oppfylder kravet til nøyaktighet.

Ved bruk av Gentian Cystatin C analysen på et IMAGE 800 instrument ble en nedre kvantifiseringsgrense ble målt til 0,24 mg/l.

Sikkerhetsområdet

I en studie på IMAGE 800 strakk sikkerhetsområdet for antigenoverskudd seg opp til 43 mg/l ved bruk av Gentian Cystatin C analysen.

Interferens

I en studie ble det ikke påvist noen signifikant interferens med hemoglobin (8 g/l), intralipid (16 g/l) eller bilirubin (800 mg/l) i cystatin C-prøver. Interferensstudien ble gjennomført i henhold til protokoll EP7-A fra CLSI [8]. Tidligere har ingen signifikant interferens blitt påvist med de legemidler som har blitt testet i henhold til anbefalingen i en publikasjon av Sonntag og Scholer [9]. Det finnes ingen RF-interferens i Gentian Cystatin C immunoanalyse fordi antistoffene kommer fra fugl (kylling) [10].

Instrumentvariasjon

Instrumentvariasjonen for Gentian Cystatin C på IMAGE og Hitachi 917 instrumentene c16000 instrumentene ble målt og resultatene analysert med Passing-Bablok regresjonsanalyse:

| Metoder | N | Prøveintervall (mg/l) | Betegnelse | Koeffisient | 95 % CI for koeffisient |
|---------------------------|----|-----------------------|---------------------------------|--------------|-------------------------|
| IMAGE 800 mot Hitachi 917 | 24 | 0,58–6,97 | Skjæringspunkt Stigningstall | 0,08 1,01 | 0,05–0,11 0,99–1,03 |

Tilleggsinformasjon

Les respektive brukermanual for mer detaljert informasjon IMAGE®-instrumentet. Ettersom Beckman Coulter® ikke produserer reagensene eller utfører kvalitetskontroller eller utfører andre tester på individuelle lot, kan Beckman Coulter® ikke holdes ansvarlig for kvaliteten på de oppnådde data og som er forårsaket av kvaliteten på reagensene, eventuell variasjon mellom ulike reagenslot eller produsentens protokollendringer.










Transportskade

Kontakt distributøren dersom det mottatte produktet har blitt skadet under transport. For teknisk brukerstøtte vennligst kontakt din lokale Beckman Coulter® representant.

Informasjonen finnes på andre språk på:

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

Symbolforklaring

| | |
|---|--|
|  | Lot-nummer |
|  | Temperaturgrense |
|  | Utløpsdato |
|  | Les bruksanvisningen |
|  | Produsent |
|  | Artikkelnummer |
|  | Medisinsk produkt for in vitro-diagnostikk |
|  | Forsiktighet |
|  | Biologisk risiko |



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

Referanser

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. Nitsch D. et al: The Uppsala Family Stud. Am J Kidney Dis. 2011;57(6):863-872
8. CLSI; Document EP7-A ; Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.
9. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001 ;38 :376-85.
10. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1812.

Instrumentinnstillinger for Cystatin C immunoanalyse på IMMAGE[®]-instrumentet fra Beckman Coulter[®] (IMMAGE 800)

Sida 1

Test name: cysx **Unit:** mg/L
Reagent lot number: * **Protocol:** Non-competitive NIPIA
Cartridge number: ** **Reagent expiry date:** *
Reagent series number: ** **Tests per lot:** 40
AGXS Limit: **AGXS Enabled:**

Sida 2

Buffer: BUF10 **Diluent:** DIL10
Sample volume: 5 µl **Calibrator dilution:** 1:1
Reaction buffer volume: 0 µl **Sample dilution:** 1:1
Reagent A volume: 30 µl **Reaction time:** 5 minutes
Reagent B volume: 195 µl

Sida 3:

Levels: 6 **Calibrator Level**
Level 1: *
Replicates: 2 **Level 2:** *
Level update: 3 **Level 3:** *
Replicates: 2 **Level 4:** *
Calibration Type: 3.order polynom **Level 5:** *
Level 6: *

Slope og Offset (under "Reagent and Calibration")

Factor a (a·x + b) : 1.10

Overfør Gentian Cystatin C-buffer til kammer B og Gentian Cystatin C-immunopartikler til kammer A. Maksimalt volum i kammer "A" og "B" i UDR-kassetten er 8,5 ml. Således kan maksimalt ca. 40 tester lastes i kassetten.

* Lot-spesifikk

** Brukerdefinert