

Cystatín C



Aplikačné poznámky pre imunologické stanovenie Cystatínu C na systémoch Beckman Coulter® IMMAGE® 800 SYSTEMS

Používanie reagenčnej súpravy A52761 na cystatín C a používateľom definované IMMAGE reagenčné zásobníky.

Určené použitie

Imunologické stanovenie cystatínu C na systémoch Beckman Coulter® IMMAGE® je diagnostický test *in vitro* na kvantitatívne stanovenie cystatínu C v ľudskom sére a plazme. Měranie cystatínu C sa používa na diagnostikovanie a liečbu ochorení obličiek.

Súhrn a objasnenie testu

Neglykozylovaný bázický proteín, cystatín C (molekulová hmotnosť 13,2 kD), sa produkuje konštantnou rýchlosťou takmer v každej bunke v ľudskom tele, obsahujúcej jadro [1]. Voľne sa filtruje cez normálnu glomerulárnu membránu a potom sa znova absorbuje a takmer úplne katabolizuje v proximálnych tubuloch. Z tohto dôvodu koncentrácia cystatínu C v ľudskej krvi úzko súvisí s glomerulárnou filtračnou rýchlosťou (GFR) [2]. Zníženie GFR spôsobuje rast koncentrácie cystatínu C. Neukázalo sa, že by koncentrácia cystatínu C bola významne ovplyvnená inými faktormi, ako sú svalová hmota, zápalové choroby, pohlavie, vek alebo strava [2, 3, 4].

Štandardizácia kalibrátora

Kalibrátor cystatínu C spoločnosti Gentian je štandardizovaný podľa medzinárodnej normy pre kalibrátory ERM-DA471/IFCC.

Predikčný výpočet GFR

Bolo publikovaných niekoľko predikčných rovníc GFR na báze cystatínu C pre dospelých a deti. Treba poznamenať, že tieto vzorce boli hodnotené rôznymi stanoveniami cystatínu C (časticovým nefelometrickým imunologickým stanovením PENIA alebo časticovým turbidimetrickým stanovením PETIA) a môžu odhaliť nepresné výsledky GFR, ak sa použije nevhodná kombinácia vzorca a stanovenia. Na výpočet GFR z hodnôt cystatínu C nameraných analytickou súpravou Gentian sa odporúča použiť nasledujúca predikčná rovnica s použitím mg/l ako jednotkového faktora [5]: Táto rovnica platí pre osoby staršie ako 14 rokov.

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

Princíp stanovenia

Vzorka séra alebo plazmy od človeka sa mieša s imunočasticami cystatínu C. Cystatín C zo vzorky a protilátka proti cystatínu C z imunočastic agregujú. Vytvorené častice komplexu absorbujú svetlo a absorpcia podľa turbidimetrie súvisí s koncentráciou cystatínu C prostredníctvom interpolácie na vytvorenej štandardnej kalibračnej závislosti. Platformy systémov IMMAGE® vypočítajú výsledky automaticky.

Činidlá poskytnuté v súprave činidiel

Reakčný pufor 1 (R1)

Reakčný pufor cystatínu C, 1 fľaštička 100 ml. R1 je MOPS fyziologický roztok pufrovaný [kyselinou 3-(N-morfolíno)-propán-sulfónovou], konzervovaný azidom sodným (0,09 % (hm./obj.)). Pufor je pripravený na použitie.

Reakčný pufor 2 (R2):

Imunočastice cystatínu C, 2 fľaštičky po 10 ml. R2 obsahuje imunočastice, ktoré sú čistenou imunoglobulínovou frakciou zameranou proti cystatínu C, ktorá je kovalentne viazaná k jednotným polystyrénovým časticám. Ľudský cystatín C bol použitý ako imunogén v procese tvorby imunočastic.

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

Poskytuje sa ako suspenzia pripravená na použitie, konzervovaná azidom sodným 0,09 % (hm./obj.) a antibiotikami.

Komponenty zahrnuté v CYSX IMMAGE Sales Group REF B69746:	
Súprava činidiel Gentian Cystatin C.	REF A52761
Používateľom definované zásobníky (bal. 10 ks)	REF 447250
Uzávery proti odparovaniu (bal. 20 ks)	REF 447170
Potrebne položky – nie sú obsiahnuté v súprave:	
Kalibračná súprava Gentian Cystatin C (6 x 1 ml)	REF A52763
Súprava kontrolných vzoriek stanovenia cystatínu C s nízkou a vysokou koncentráciou (2 x 1 ml)	REF A52765

Varovania a preventívne opatrenia

- Tento test je určený len na použitie *in vitro* a musí s ním pracovať výhradne kvalifikovaný personál.
- Činidlá obsahujú antibiotiká a musí sa s nimi zaobchádzať s náležitou opatrnosťou.
- Činidlá obsahujú konzervačné činidlo azid sodný a musí sa s nimi zaobchádzať s náležitou opatrnosťou: Nepožívajte ich ani nedovoľte styk s pokožkou alebo sliznicami. Koncentrácia azidu sodného v tomto produkte nie je charakterizovaná ako nebezpečná. Akumulovaný NaN_3 v olovenom a medenom potrubí však môže spôsobovať tvorbu výbušných azidov kovov. Zabráňte tomu dôkladným spláchnutím pri vylievaní do výlevky.
- Imunočastice obsahujú látky živočíšneho pôvodu. Likvidácia odpadového materiálu musí byť v súlade s lokálnymi požiadavkami.
- Sérum použité vo výrobe kalibrátorov a kontrolných vzoriek bolo testované na antigén hepatitídy HBsAG, protilátky anti-HCV, anti-HIV1 a anti-HIV2 s negatívnym zisteným výsledkom. Tieto materiály napriek tomu obsahujú látky ľudského a živočíšneho pôvodu a musí sa s nimi zaobchádzať s náležitou opatrnosťou. Likvidácia odpadového materiálu musí byť v súlade s lokálnymi požiadavkami.

Uchovávanie a stálosť činidiel

Doba použiteľnosti neotvorených činidiel pri teplote 2–8 °C: pozrite si dátum expirácie na štítku. Stálosť po otvorení: do dátumu expirácie pri použití pevných uzáverov a pri teplote 2–8 °C. Stálosť pri použití: 28 dní pri použití uzáverov proti vyparovaniu.

Odber vzoriek a zaobchádzanie s nimi

Materiál potrebný na vzorky je ľudské sérum alebo EDTA/heparinizovaná plazma. Odporúča sa analyzovať čo najčerstvejšie vzorky. Testovanie stálosti vzoriek však ukázalo, že vzorky cystatínu C v sére a plazme sú stále 26 dní pri izbovej teplote (8–25 °C) alebo 26 dní v prípade uchovávania pri teplote 2–8 °C. Okrem toho bolo tiež publikované, že vzorky môžu byť pri teplote nižšej ako -70 °C skladované až 5 rokov [6]. Vzorky pred analyzovaním dobre premiešajte.

Postup stanovenia

Poznámky k aplikácii/Inštalácia stanovenia

Podrobný zoznam parametrov prístroja nájdete v časti „Parametre prístroja“, ktorá nasleduje nižšie. Poznámky k aplikácii sú tiež dostupné na www.gentian.com. Nastavenia, údržba a prevádzka prístrojov musia byť vykonávané v súlade s príručkami pre prístroje Beckman Coulter® IMMAGE®.

Príprava činidiel

Činidlá sú dodávané v stave pripravenom na priame prenesenie do IMMAGE zásobníkov na činidlá. Preneste obsah činidla 1 a činidla 2 do príslušnej priehradky užívateľom definovaného zásobníka tak, ako je to zobrazené v tabuľke uvedenej nižšie. Pri použití aplikujte uzávery proti vyparovaniu. Pracujte opatrne, aby ste sa vyhli kontaminácii. Ak sa činidlá nepoužívajú, musia sa uchovávať zatvorené originálnymi pevnými uzávermi pri teplote 2 až 8 °C.

Súprava na stanovenie Cystatínu C	Priehradka A	Priehradka B
R1, pufovať činidla	-	8,5 ml
R2, imunočastice	1,5 ml	-

Vytvorenie kalibračnej závislosti

Na vytvorenie 6-bodovej štandardnej závislosti podľa definície v príručkách systémov Beckman Coulter® IMMAGE® použite štandardy 1 až 6. Hodnoty kalibrátorov závisia od šarží a nová kalibrácia sa musí vykonať vždy pri použití novej kalibračnej šarže. Priradené hodnoty kalibrátorov sú uvedené na háčku analytických hodnôt poskytnutom s kalibrátorom. Nová kalibrácia sa musí vykonávať raz za 4 týždne.

Kontrolné vzorky pre kontrolu kvality

Kontrolné vzorky s nízkou a vysokou koncentráciou sa musia analyzovať každý deň pred použitím vzoriek, aby sa potvrdila kalibračná závislosť. Kontrolné vzorky majú priradený rozsah hodnôt, ktorý musia splniť pred meraním vzoriek. Priradené hodnoty kalibrátorov sú uvedené na háčku analytických hodnôt poskytnutom so súpravou kontrolných vzoriek Gentian Cystatin C. Ak hodnoty kontrolných vzoriek nie sú platné, zopakujte merania kontrolných vzoriek. Ak sa kalibrácia nedá vykonať bez chyby alebo ak sa platné hodnoty kontrolných vzoriek nedajú reprodukovať, obráťte sa na spoločnosť Beckman Coulter®, aby Vám poskytla podporu.

Meranie vzoriek pacientov

Ak bola vykonaná platná kalibrácia a hodnoty kontrolných vzoriek sú v platnom rozsahu, môžu sa merať vzorky séra alebo plazmy. Skontrolujte, či máte minimálny objem vzoriek a vzorky analyzujte podľa pokynov v príručkách systémov Beckman Coulter® IMMAGE®.

Výsledky

Výsledky vypočítajú systémy Beckman Coulter® IMMAGE® automaticky. Výsledky sú v jednotkách mg/l.

Obmedzenia

Materiál sa nesmie používať po dátume expirácie.

Rozsah meraní

Rozsah meraní cystatínu C v stanovení je približne 0,4–8,0 mg/l. Presný rozsah závisí od nastavenia hodnoty kalibrátora z čísla danej šarže kalibračnej súpravy Gentian Cystatin C.

Referenčné intervaly

Spoločnosť Gentian sa pri stanovení prenosnosti referenčného intervalu riadi podľa príručky CLSI, C28-A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory* (Ako definovať a určiť referenčné intervaly v klinickom laboratóriu); schválené druhé vydanie príručky. Referenčný interval je založený na štúdiu referenčných intervalov vykonanej v nemocnici Växjö, Švédsko, zahŕňajúcej vzorky séra od 136 zdravých (ako sami vyhlásili) subjektov vo veku 20 – 80 rokov. Vo vzorkách bol analyzovaný cystatín C s použitím platformy AU 2700. Referenčný interval bol vypočítaný neparametricky a bol stanovený na 0,53 – 1,01 mg/l. Toto predstavuje strednú hodnotu pre 95 % celého testovaného súboru. Odporúča sa, aby si každé laboratórium stanovilo lokálny referenčný interval, lebo hodnoty môžu závisieť od testovaného súboru.

Charakteristiky účinnosti

Ak nie je uvedené ináč, všetky štúdie boli vykonané v jednom laboratóriu použitím jednej šarže činidiel.

Presnosť

Imunoanalytickej súpravy Gentian Cystatin C bolo použité v 3-dňovej štúdiu presnosti navrhnutéj v súlade s protokolom EP5-A CLSI. Pomocou systému Beckman Coulter® IMMAGE 800* boli merané štyri zmesi séra a 2 kontrolné úrovne.

ID	Priemerná hodnota (mg/l)	CV v rámci stanovenia (%)	Celkový 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

Lineárnosť

Imunoanalytickej súpravy Gentian Cystatin C bolo použité v štúdiu lineárnosti systému IMMAGE 800. Bol pozorovaný lineárny rozsah 0,35 – 6,79 mg/l. Koncentrácie mimo tohto rozsahu neboli testované.

Výťažnosť analýzy

V štúdiu na prístroji Beckman Coulter® IMMAGE 800 bola pomocou imunoanalytickej súpravy Gentian Cystatin C pozorovaná výťažnosť 100 – 110 %.

Hranica kvantifikácie

Hranica kvantifikácie je definovaná takto: je to najnižšie aktuálne množstvo analyzovanej látky, ktoré možno nádejne zistiť a pri ktorom celková chyba neprekračuje limitné požiadavky na presnosť.

Pomocou analytickej súpravy Gentian Cystatin C bola na prístroji IMMAGE 800 nameraná dolná hranica kvantifikácie 0,24 mg/l.

Zóna bezpečnosti

V štúdiu na systéme IMMAGE 800 sa zóna bezpečnosti pre nadbytočný antigén pomocou testovacej súpravy Gentian Cystatin C rozšírila až na 43 mg/l.

Rušenie

V štúdiu nebolo vo vzorkách cystatínu C zistené žiadne významné rušenie vzorkami hemoglobínu (8 g/l), intralipidu (16 g/l) ani bilirubínu (800 mg/l). Štúdia rušenia bola navrhnutá v súlade s protokolom EP7- A z CLSI [7]. Predtým nebolo zistené žiadne významné rušenie liekmi testovanými podľa odporúčaní v publikácii autorov Sonntag a Scholer [8]. V imunologickom stanovení cystatínu C od spoločnosti Gentian nebolo prítomné žiadne rádiovkenné rušenie, lebo protilátky sú vyrobené s použitím vtáčích (kuracích) protilátok [9].

Prístrojové odchýlky

Prístrojové odchýlky medzi stanovením cystatínu C od spoločnosti Gentian boli merané na prístrojoch IMMAGE a Hitachi 917. Výsledky boli analyzované použitím Passingovej-Bablokovej regresnej analýzy:

Metódy	N	Vzorka rozsahu (mg/l)	Výraz	Koeficient	95 % CI koeficientu
IMMAGE 800 vs. Hitachi 917	24	0,58 – 6,97	Priesečník Smernica	0,08 1,01	0,05 – 0,11 0,99 – 1,03

Ďalšie informácie

Podrobnejšie informácie o systémoch IMMAGE® nájdete v príručke príslušného systému. Keďže spoločnosť Beckman Coulter® nevyrába činidlo ani nevykonáva kontrolu kvality ani ďalšie testy na jednotlivých šaržach, spoločnosť Beckman Coulter® nemôže zodpovedať za kvalitu získaných údajov, ktorá je ovplyvnená účinnosťou tohto činidla, odchýlkami medzi šaržami činidla alebo zmenami protokolu vykonávanými výrobcom.

* Registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

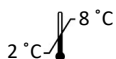
Poškodenie pri dodaní

Ak produkt dostanete poškodený, informujte o tom, prosím, distribútora. Technickú pomoc Vám poskytne lokálny zástupca spoločnosti Beckman Coulter®. Informácie v iných jazykoch nájdete na stránke: <https://www.gentian.com/clinical-diagnostic-products/beckman-coulter-customers-cystatin-c>

Vysvetlenie symbolov



Číslo šarže



Teplotné obmedzenie



Dátum spotreby



Postupujte podľa návodu na použitie



Výrobca



Katalógové číslo



Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*



Pozor



Biologické riziká



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

Literatúra

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.

Prístrojové nastavenia pre imunologické stanovenie Cystatínu C na systémoch* Beckman Coulter® IMAGE (IMAGE 800)

Strana 1

Názov testu: cysx	Jednotka: mg/l
Číslo šarže činidla: *	Protokol: Nekompetitívne NIPIA
Číslo zásobníka: **	Dátum expirácie činidla: *
Sériové číslo činidla: **	Počet testov na dávku: 40
Limit AGXS:	Aktivácia AGXS:

Strana 2

Pufor: BUF10	Diluent: DIL10
Objem vzorky: 5 µl	Riedenie kalibrátora: 1:1
Objem reakčného pufru: 0 µl	Riedenie vzorky: 1:1
Objem činidla A: 30 µl	Reakčný čas: 5 minút
Objem činidla B: 195 µl	

Strana 3:

Hladiny: 6	Hladina kalibrátora
Opakovania: 2	Hladina 1: *
Aktualizácia hladiny: 3	Hladina 2: *
Opakovania: 2	Hladina 3: *
Typ kalibrácie: polynóm 3. stupňa	Hladina 4: *
	Hladina 5: *
	Hladina 6: *

Smernica a Offset (pod „Činidlo a kalibrácia“)

Faktor a (a.x+b) : 1,10

Preneste pufor z analyzačnej súpravy Gentian Cystatin C do priehradky B a imunočastice Gentian Cystatin C do priehradky A. Maximálny objem priehradiek „A“ a „B“ UDR zásobníka je 8,5 ml. Preto je maximálny počet testov na jeden zásobník približne 40 testov.

* Závisí od šarže

** Definované používateľom