

Applikationsnot till Cystatin C immunanalys för IMMAGE® 800-instrument från Beckman Coulter®

Med Gentian Cystatin C reagenskit A52761 och användardefinierade IMMAGE reagenskassetter

Avsedd användning

Cystatin C immunanalys för Image®-instrument från Beckman Coulter® är ett *in vitro*-diagnostiskt test för kvantitativ bestämning av cystatin C i humant serum och human plasma. Mätning av cystatin C används vid diagnostisering och behandling av njursjukdomar.

Sammanfattning och förklaring av testet

Det icke-glykosylerade basiska proteinet cystatin C (molekylvikt 13,2 kD) produceras med konstant hastighet i nästan alla kärnförande celler i människokroppen [1]. Det filtreras fritt genom normala glomerulusmembran, varefter det reasorberas och kataboliseras nästan helt i proximala tubuli. Det finns således ett nära samband mellan koncentrationen av cystatin C i humant blod och den glomerulära filtrationshastigheten (GFR) [2]. En sänkning av GFR leder till en ökning av koncentrationen av cystatin C. Det har visats att koncentrationen av cystatin C inte påverkas signifikant av andra faktorer, såsom muskelmassa, inflammatoriska sjukdomar, kön, ålder och kost [2,3,4].

Kalibratorstandardisering

Gentian Cystatin C-kalibratör är standardiserad mot den internationella kalibratorstandarden ERM-DA471/FCC.

Prediktionsekvationer för beräkning av GFR

Det har publicerats flera cystatin C-baserade prediktionsekvationer för beräkning av GFR för vuxna och barn. Det bör noteras att dessa formler har utvärderats med olika cystatin C-analyser (partikelförstärkt nefelometrisk immunanalys, PENIA, eller partikelförstärkt turbidimetrisk immunanalys, PETIA) och kan ge felaktiva GFR-resultat vid felaktig kombination av formel och analys. För beräkning av GFR på basis av cystatin C-värden uppmätta med Gentian-analysen rekommenderas följande prediktionsekvation med mg/l som enhet [5]: Ekvationen gäller för personer över 14 år.

$$\text{GFR [ml/min/1,73 m}^2\text{]} = \frac{79,901}{\text{Cystatin C (mg/l)}^{1.4389}}$$

Analysprincip

Humant serum- eller plasmaproov blandas med cystatin C-immunpartiklar. Cystatin C från provet och anti-cystatin C från immunpartikeln aggregerar. De bildade komplexen absorberar ljus och baserat på absorptionen bestäms koncentrationen av cystatin C med turbimetri via interpolation mot en etablerad standardkurva. Image-instrumenten beräknar resultaten automatiskt.

Reagens i reagenskitet

Reaktionsbuffert 1 (R1):

Cystatin C reaktionsbuffert, 1 flaska med 100 ml. R1 är en MOPS [3-(N-morfolino)-propansulfonsyra] buffrad med koksaltlösning och konserverad med natriumazid (0,09 % (v/v)). Bufferten är bruksfärdig.

Reaktionsbuffert 2 (R2):

Cystatin C-immunpartiklar, 2 flaskor med 10 ml. R2 innehåller immunpartiklar bestående av en renad immunglobulinfraktion riktad mot cystatin C, vilken är kovalent bunden till uniforma polystyrenpartiklar. Humant cystatin C används som immunogen i framställningen av immunpartiklarna. Levereras som bruksfärdig suspension konserverad med 0,09 % (v/v) natriumazid och antibiotika.

Produkter som ingår i paketet CYSXJ IMMAGE REF B69746:	
Gentian Cystatin C reagenskit	REF A52761
Användardefinierad reagenskasset (förp. med 10)	REF 447250
Avdunstningslock (förp. m. 20)	REF 447170
Nödvändiga produkter (ingår ej):	
Gentian Cystatin C kalibratorkit (6 x 1 ml)	REF A52763
Gentian Cystatin C kontrollkit, låg & hög, (2 x 1 ml)	REF A52765

Varningar och försiktighet

1. Detta test är endast avsett för användning *in vitro* och får endast hanteras av utbildad personal.
2. Reagensen innehåller antibiotika och måste hanteras med erforderlig försiktighet.
3. Reagensen innehåller natriumazid och måste hanteras med erforderlig försiktighet: Får ej förtäras. Undvik kontakt med hud och slemhinnor. Koncentrationen av natriumazid i produkten är inte klassificerad som farlig. Vid ansamling av NaN_3 i bly- och kopparrör kan dock explosiva metallazider bildas. Spola rikligt vid tömning i avlopp för att förhindra detta.
4. Immunpartiklarna innehåller substanser med animaliskt ursprung. Lokala föreskrifter ska följas vid avfallshantering av kasserat material.
5. Det serum som används i tillverkningen av kalibratörer och kontroller har testats för hepatit HBsAG, anti-HCV, anti-hiv1 och anti-hiv2 och konstaterats vara negativt. Trots det måste produkten hanteras med erforderlig försiktighet eftersom den innehåller substanser med humant och animaliskt ursprung. Lokala föreskrifter ska följas vid avfallshantering av kasserat material.

Förvaring och stabilitet

Hållbarhet för öppnade reagens vid 2–8 °C: Se utgångsdatum på etiketten. Stabilitet efter öppnande: Till utgångsdatum vid användning av hårda lock vid 2–8 °C. Stabilitet under användning: 28 dagar vid användning av avdunstningslock. Produkter med utgångsdatum angivet i formatet år och månad går ut den sista dagen i angiven månad.

Provtagning och hantering

Provmaterialet är humant serum eller EDTA-/hepariniserad plasma. Proverna bör vara så fräska som möjligt vid analysen. Stabilitetstester har dock visat att cystatin C i serum- och plasmaprover är stabilt i 26 dagar vid rumstemperatur (8–25 °C) eller i 26 dagar vid förvaring i 2–8 °C. Det finns publicerade uppgifter om att prover också kan förvaras vid under -70 °C i upp till 5 år [6]. Proverna ska blandas väl före analys.

Analysrutin

Applikationsnot/analysinställningar

I avsnittet "Instrumentinställningar" nedan finns en detaljerad lista med instrumentparametrar. Applikationsnoten finns också på: www.gentian.com. Anvisningarna i användarmanualen till IMMAGE®-instrument från Beckman Coulter® måste följas vid inställning, underhåll och användning av instrumentet och hänsyn måste tas till informationen om försiktighet.

Förberedelser

Reagensen levereras färdiga att överföras till IMMAGE-reagenskassetten. Överför av innehåll i reagens 1 och reagens 2 till rätt fack i den användardefinierade kassetten enligt tabellen nedan och sätt på avdunstningslock under användning. Var noga med att undvika kontaminering. Reagensen ska förvaras förslutna med hårda originallock vid 2–8 °C när de inte används.

Cystatin C kit	Fack A	Fack B
R1, Reagensbuffert	-	8,5 ml
R2, Immunpartiklar	1,5 ml	-

Etablering av kalibreringskurva

Använd standard 1–6 för att fastställa en 6-punkts standardkurva enligt definitionen i användarmanualen till IMMAGE®-instrument från Beckman Coulter®. Kalibratorvärdena är sats-specifika och en ny kalibrering måste utföras när en ny kalibratorsats tas i bruk. Åsatta värden för kalibratorm anges i det blad med analysvärden som medföljer kalibratorm. En ny kalibrering ska utföras var 4:e vecka.

Kvalitetskontroll

De låga och höga kontrollerna måste testas varje dag för att validera kalibreringskurvan innan något prov analyseras. Kontrollerna har ett åsatt värdesintervall som måste uppnås innan prover analyseras. De åsatta värdena anges i bladet med analysvärden som medföljer Gentian Cystatin C kontrollkit. Om kontrollerna inte är giltiga, ska kontrollmätningarna upprepas. Kontakta Beckman Coulter® för support om det inte går att utföra kalibreringen felfritt eller om giltiga kontrollvärden inte kan reproduceras.

Mätning av patientprover

När en giltig kalibrering har utförts och kontrollvärdena ligger inom det angivna intervallet, kan serum- eller plasmaprover mätas. Kontrollera att minsta provvolym finns tillgänglig och analysera proverna i enlighet med anvisningarna i användarmanualen till IMMAGE®-instrument från Beckman Coulter®.

Resultat

Resultaten beräknas automatiskt av IMMAGE®-instrumentet från Beckman Coulter®. Resultaten presenteras i mg/l.

Begränsningar

Material ska inte användas efter utgångsdatum.

Mätområde

Analysens mätområde för cystatin C är cirka 0,4–8,0 mg/l. Det exakta området beror av de sats-specifika kalibratorvärdena.

Referensintervall

Gentian följer CLSI Guideline, C28-A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* för att fastställa referensintervallens överförbarhet. Referensintervallet bygger på en studie utförd på Växjö lasarett med serumprover från 136 självdeklarerade friska personer mellan 20 och 80 år. Proverna analyserades för cystatin C på AU2700. Referensintervallet beräknades icke-parametriskt och bestämdes till 0,53–1,01 mg/l. Detta representerar de mittersta 95 % av testpopulationen. Varje laboratorium bör bestämma ett lokalt referensintervall eftersom värdena kan variera beroende på den population som testas.

Prestanda

Alla studier utfördes med användning av en reagenssats i ett laboratorium om inte annat anges.

Precision

Gentian Cystatin C användes i en 3-dagars precisionsstudie i enlighet med CLSI-protokollet EP5-A. 3 serumpooler och 2 kontrollnivåer mättes på IMMAGE 800®-instrumentet från Beckman Coulter®.

ID	Medelvärde (mg/l)	Inom körning 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

Linjäritet

Gentian Cystatin C immunanlys användas i en linjäritetsstudie på IMMAGE 800-instrumentet, varvid ett linjäritetsområde på 0,35–6,79 mg/l observerades. Koncentrationer utanför detta område har inte testats.

Analytisk återvinning

En återvinning på 100–110 % observerades för Gentian Cystatin C immunanlys på ett IMMAGE 800-instrument från Beckman Coulter®.

Kvantifieringsgräns

Kvantifieringsgräns definieras som den lägsta faktiska mängden av en analyt som kan påvisas pålitligt och vid vilken det totala felet uppfyller kraven för noggrannhet.

En nedre gräns för kvantifiering uppmättes vid 0,24 mg/l med Gentian Cystatin C-analysen på ett IMMAGE 800-instrument.

Säkerhetsområde

I en studie med Gentian Cystatin C på IMMAGE 800 sträckte sig säkerhetsområdet för antigenöverskott upp till 43 mg/l.

Interferens

I en studie påvisades ingen signifikant interferens med hemoglobin (8 g/l), intralipid (16 g/l) eller bilirubin (800 mg/l) i cystatin C-prover. Interferensstudien genomfördes i enlighet med protokoll EP7-A från CLSI [8]. Tidigare har ingen signifikant interferens påvisats med de läkemedel som testats enligt rekommendation i en publikation av Sonntag och Scholer [9]. Det finns ingen RF-interferens i Gentian Cystatin C immunanlys eftersom antikropparna härrör från fågel (kyckling) [10].

Instrumentvariation

Instrumentvariationen för Gentian Cystatin C på instrumenten IMMAGE och Hitachi 917 mättes och resultaten analyserades med Passing-Bablok regressionsanalys:

Metoder	N	Prov-intervall (mg/l)	Term	Koefficient	95 % CI för koefficient
IMMAGE 800 mot Hitachi 917	24	0,58–6,97	Skärningspunkt Lutning	0,08 1,01	0,05–0,11 0,99–1,03










Mer information

Läs respektive användarmanual för mer detaljerad information om IMMAGE®-instrumentet. Eftersom Beckman Coulter® inte tillverkar reagenset eller utför kvalitetskontroller eller andra tester av enskilda tillverknings-satser, kan Beckman Coulter® inte hållas ansvarigt för kvaliteten på de data som erhålls och som beror av reagensets kvalitet, eventuella variationer mellan olika tillverknings-satser av reagenset eller tillverkarens protokolländringar.

Transportskada

Meddela distributören om produkten är skadad vid leverans. För teknisk support, kontakta den lokala representanten för Beckman Coulter®. Informationen finns på andra språk på: <https://www.gentian.com/clinical-diagnostic-products/beckman-coulter-customers-cystatin-c>

Symbolförklaring

	Tillverkningssatsnummer
	Temperaturgräns
	Används före-datum
	Läs bruksanvisningen
	Tillverkare
	Artikelnummer
	Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Försiktighet
	Biologiska risker

Referenser

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.

Gentian AS CE

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

Instrumentinställningar för Cystatin C immunanalys på IMMAGE[®]-instrument från 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**
Replicates: 2 **Level 1:** *
Level update: 3 **Level 2:** *
Replicates: 2 **Level 3:** *
Calibration Type: 3.order polynom **Level 4:** *
Level 5: *
Level 6: *

Slope och Offset (under "Reagent and Calibration")

Factor a (a·x + b) : 1.10

Överför Gentian Cystatin C-buffert till fack B och Gentian Cystatin C -immunpartiklar till fack A. Maximal volym i fack "A" och "B" i UDR-kassetten är 8,5 ml. Således kan maximalt cirka 40 tester laddas i kassetten.

* Satsspecifikt

** Användardefinierat